

**PENGARUH pH, SUHU, DAN REUSABILITY DALAM MATRIKS KITOSAN Mg
TERHADAP AKTIVITAS IMOBILISASI ENZIM PAPAIN**



Disusun Sebagai Salah Satu Syarat Menyelesaikan Progam Studi Strata I pada
Progam Studi Teknik Kimia Fakultas Teknik

Oleh:

ALFATKAH GITASETIATIAS
D 500 130 131

PROGAM STUDI TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2018

HALAMAN PERSETUJUAN

**PENGARUH pH, SUHU, DAN REUSABILITY DALAM
MATRIKS KITOSAN Mg TERHADAP AKTIVITAS IMOBILISASI
ENZIM PAPAIN**

PUBLIKASI ILMIAH

Oleh:

ALFATKAH GITASETIATIAS

D 500 130 131

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Hamid', enclosed within a large, stylized oval loop that ends in a small arrowhead pointing to the right.

Hamid Abdillah, S.T., M.T

NIK. 894

HALAMAN PENGESAHAN

**PENGARUH pH, SUHU, DAN REUSABILITY DALAM
MATRIKS KITOSAN Mg TERHADAP AKTIVITAS IMOBILISASI
ENZIM PAPAIN**

Oleh

ALFATKAH GITASETIATIAS
D 500 130 131

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Fakultas Teknik

Universitas Muhammadiyah Surakarta

Pada hari Rabu, 28 Februari 2018

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan Penguji:

1. **Hamid Abdillah, S.T., M.T**
(Ketua Dewan Penguji)
2. **Dr. Ahmad M. Fuadi, M.T**
(Anggota I Dewan Penguji)
3. **Rois Fatoni, S.T, M.Sc, Ph.D**
(Anggota II Dewan Penguji)



(.....)
(.....)
(.....)

Dekan,



Ir. Sri Sunaryono, M.T., Ph.D
NIK. 682

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 28 Februari 2018

Penulis



ALFATKAH GITASETIATIAS

D 500 130 131

PENGARUH pH, SUHU, DAN REUSABILITY DALAM MATRIKS KITOSAN Mg TERHADAP AKTIVITAS IMMOBILISASI ENZIM PAPAIN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA

Abstrak

Imobilisasi enzim papain adalah suatu proses dimana enzim yang secara fisik ditempatkan pada suatu tempat atau ruang tertentu sehingga aktivitas kataliknya tetap ada dan dapat digunakan berulang kali. Dalam penelitian imobilisasi enzim papain ini matriks yang digunakan adalah kitosan-Mg, aktivitasnya diuji akan dibandingkan dengan papain murni yang digunakan oleh pH dan suhu. Aktivitas enzim papain 2,5 mL buffer fosfat ditambah 0,5 mL kasein dengan variasi pH 4,5,6,7, dan 8 dimasukkan ke dalam tabung reaksi 1. Tabung reaksi 2 diisi oleh 0,25 mL enzim papain. Di preinkubasi selama 10 menit dengan variasi suhu 50,60,70, dan 80°C. Tabung reaksi 2 dituang ke dalam tabung reaksi 1, di inkubasi kembali selama 10 menit. Ditambahkan 1 mL TCA 10%, didinginkan 10 menit, di sentrifugasi 3000rpm 10 menit. Diambil 2 mL filtrate ditambah 1 mL akuades, 4 mL Na₂CO₃, 1 mL reagen follin diukur absorbansinya dengan spektrofotometer dengan gelombang $\lambda=650$ nm. Aktivitas enzim papain terjadi pH optimum pada pH 7 pada papain terimobil. Aktivitas maksimal pada enzim papain imobil terjadi pada suhu 70°C. *Reusability* enzim papain imobil dapat digunakan sebanyak 5 kali.

Kata Kunci: Aktivitas Enzim, Enzim Papain, Imobilisasi, Kitosan, *Reusability*.

Abstracts

Immobilization of papain enzyme is a process where by enzymes are physically placed in a certain place or space so that their catalytic activity remains and can be used repeatedly. In this immobilized papain enzyme study the matrix used was chitosan-Mg, its activity tested to be compared with pure papain used by pH and temperature. The enzyme activity of papain 2.5 mL phosphate buffer plus 0.5 mL casein with variation of pH 4,5,6,7, and 8 was put into reaction tube 1. The reaction tube 2 was filled by 0.25 mL papain enzyme. In preincubation for 10 minutes with temperature variations 50,60,70, and 80°C. Test tube 2 was poured into test tube 1, re-incubated for 10 minutes. Added 1 mL TCA 10%, cooled 10 minutes, centrifugation 3000rpm 10 minutes. Taken 2 mL filtrate plus 1 mL of distilled water, 4 mL Na₂CO₃, 1 mL of follin reagent measured its absorbance by spectrophotometer with wave $\lambda=650$ nm. The enzyme activity of papain occurs optimum pH at pH 7 in the immobilized papain. Maximum activity in the immobil papain enzyme occurs at 70°C. *Reusability* of immobil papain enzyme can be used 5 times.

Keywords: Enzyme Activity, Papain Enzyme, Immobilization, Chitosan, *Reusability*.

1. PENDAHULUAN

Enzim merupakan molekul *biopolymer* yang tersusun dari serangkaian asam amino dalam komposisi dan tersusun rantai yang teratur dan tetap. Enzim memegang peranan penting dalam berbagai reaksi di dalam sel. Sebagai protein, enzim diproduksi dan digunakan oleh sel hidup untuk mengkatalis reaksi antara lain konversi energi dan metabolisme pertahanan sel (Richana, 2002). Imobilisasi enzim adalah suatu proses dimana enzim yang secara fisik ditempatkan pada suatu tempat atau ruang tertentu sedemikian rupa sehingga aktivitas katalitiknya tetap ada dan dapat digunakan berulang kali (Bradford, M. 1976). Imobilisasi enzim dapat digunakan berulang kali dibandingkan dengan enzim bebas, stabilitas dapat dipertahankan karena enzim tidak terkontaminasi dengan produk dan produk yang diperoleh tidak dikotori enzim (Chibata, I. 1978).

Kitosan merupakan hasil deasetilasi dari kitin. Kitosan adalah polimer alami yang dapat mengikat *crosslink* ketika ditambahkan agen silang seperti *glutaraldehid* (Yagar, Y. 2002). Aktivitas enzim sangat dipengaruhi oleh pH medium. pH saat aktivitas enzim maksimum adalah pH optimum. pH optimum merupakan pH saat gugus pemberi dan penerima proton yang berperan penting pada sisi pengikat substrat berada dalam tingkat ionisasi yang diinginkan, sehingga substrat lebih mudah berinteraksi dengan sisi katalik enzim (Kumaunang, 2011). Dalam penelitian ini adalah bagaimana menentukan pH optimum, waktu, dan konsentrasi imobilisasi pada kitosan matriks Mg dan menentukan pengaruh papain imobil jika dibandingkan dengan papain bebas.

2. METODE

2.1. Bahan

Kitosan, $MgCl_2$, Na_2CO_3 , Kasein, Buffer Fosfat, TCA, Follin Ciaocalteou, Akuades, Enzim Papain.

2.2. Alat

Tabung reaksi, gelas pengaduk, gelas beker, Erlenmeyer, pipet volume, corong kaca, UV-Vis Spectrometer, tabung centrifuge, centrifuge, pH meter, kertas saring, neraca analitik.

2.3. Cara Kerja

Persiapan matriks kitosan-Mg 100 mg kitosan dicampurkan dengan 10 mL larutan Mg (II) konsentrasi 500mg/mL. pencampuran dilakukan selama 60 menit. Setelah itu disaring. Kitosan yang didapatkan berikatan dengan kation lalu dicuci dengan akuades. Setelah itu dikeringkan dan digunakan sebagai matriks kitosan-Mg. sebanyak 100 mg matriks kitosan-Mg direaksikan dengan 5 mL larutan papain dengan konsentrasi 20 mg/mL. pH, waktu, dan konsentrasi yang digunakan bervariasi. pH yang digunakan antara 5-7 menggunakan buffer fosfat sedangkan variasi waktu yang digunakan yaitu 3,6,9, dan 12 jam, sedangkan variasi konsentrasi mulai dari 10,20,30, dan 40 mg/mL. reaksi tersebut berlangsung selama 12 jam. Setelah interaksi selesai maka akan di centrifuge pada 3500 rpm selama 10 menit kemudian sampel disaring. Jumlah papain yang tidak terimobilisasi dalam filtrate ditentukan dengan spektrofotometer UV-Vis dengan gelombang $\lambda = 595 \text{ nm}$.

Kemudian uji aktivitas enzim papain yaitu 2,5 mL buffer fosfat ditambah 0,5 mL kasein dengan variasi pH 4,5,6,7, dan 8 dimasukkan ke dalam tabung reaksi 1. Dalam tabung reaksi 2 diisi oleh 0,25 mL enzim papain. Kedua tabung di preinkubasi selama 10 menit dengan variasi suhu antara 50,60,70, dan 80°C. Setelah preinkubasi tabung reaksi 2 yang berisi 0,25 enzim papain dituang ke dalam tabung reaksi 1 yang berisi 2,5 mL buffer fosfat dan 0,5 mL kasein. Setelah itu di inkubasi pada variasi suhu antara 50,60,70, dan 80°C selama 10 menit. Setelah inkubasi reaksi dihentikan dan ditambahkan 1 mL TCA 10%, didinginkan selama 10 menit, kemudian di sentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit. Kemudian diambil 2 mL filtrate ditambahkan 1 mL akuades, 4 mL Na_2CO_3 , 1 mL reagen follin ciaocalteau

lalu diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan gelombang $\lambda = 650 \text{ nm}$. Uji *reusability* dalam reaksi enzematik hanya dilakukan pada papain yang sudah terimobil, karena papain bebas hanya dapat digunakan sekali pakai.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil

Berikut ini adalah hasil penelitian pengaruh pH terhadap enzim papain imobil.

pH	Hasil Spektro	Aktivitas (U/mL)
4	0,027	3,142
5	0,020	2,328
6	0,026	3,026
7	0,035	4,074
8	0,020	2,328

Tabel 1. Pengaruh pH terhadap enzim papain imobil

Berikut ini adalah hasil penelitian pengaruh pH terhadap enzim papain murni.

pH	Hasil Spektro	Aktivitas (U/mL)
4	0,036	4,190
5	0,030	3,492
6	0,020	2,328
7	0,015	1,746
8	0,007	0,815

Tabel 2. Pengaruh pH terhadap enzim papain murni

Berikut ini adalah hasil penelitian pengaruh suhu terhadap enzim papain imobil.

Suhu (°C)	Hasil Spektro	Aktivitas (U/mL)
50	0,030	3,492
60	0,039	4,539
70	0,162	18,857
80	0,022	2,560

Tabel 3. Pengaruh suhu terhadap enzim papain imobil

Berikut ini adalah hasil penelitian pengaruh suhu terhadap enzim papain murni.

Suhu (°C)	Hasil Spektro	Aktivitas (U/mL)
50	0,040	4,656
60	0,062	7,216
70	0,023	2,677
80	0,008	0,931

Tabel 4. Pengaruh suhu terhadap enzim papain murni

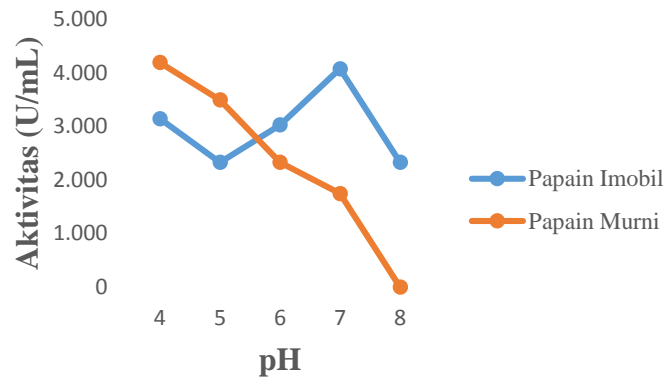
Berikut ini adalah hasil penelitian *reusability* terhadap enzim papain imobil.

Ke-	Hasil Spektro	Aktivitas (U/mL)
1	0,162	18,857
2	0,156	18,158
3	0,127	14,783
4	0,114	13,269
5	0,08	9,312
6	0,05	5,820
7	0,034	3,957

Tabel 5. *Reusability* terhadap enzim papain imobil

3.2. Pembahasan

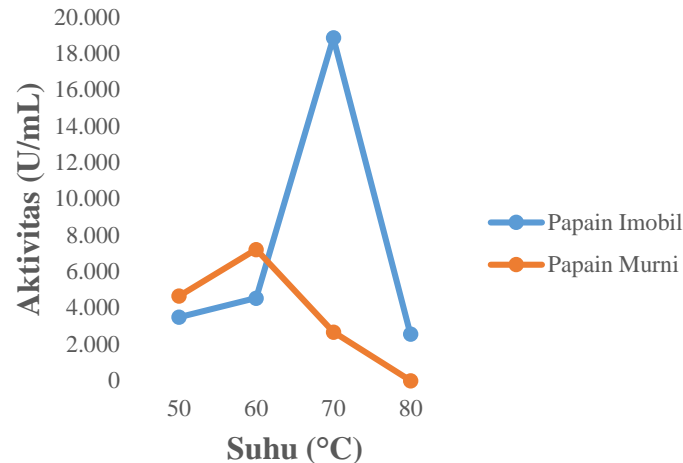
Berikut ini adalah data dari pengaruh pH terhadap aktivitas enzim papain.



Gambar 1. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim papain

Hasil dari uji aktivitas memiliki tujuan untuk mengetahui aktivitas enzim yang telah diimobilisasi dengan matriks kitosan Mg dengan enzim papain yang tidak melalui proses imobilisasi. Berdasarkan gambar 1 dapat dilihat bahwa papain murni pada pH 4 samai dengan pH 6 mengalami penurunan yang stabil, tetapi pada pH 7 mengalami kenaikan sedikit dan mengalami penurunan kembali pada pH 8, pH tertinggi terjadi pada pH 4. Sedangkan pada papain imobilisasi menunjukkan pada pH 7 mengalami kenaikan dan berada pada titik tertinggi namun pada pH 8 mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa perubahan pH menyebabkan perubahan terhadap aktivitas enzim papain imobil, sedangkan pada papain murni dapat dilihat bahwa aktivitas papain murni tidak terlampau jauh. Adanya perubahan pH akan mempengaruhi konformasi gugus-gugus pada sisi aktif enzim dengan substratnya, sehingga diperlukan pH yang sesuai untuk mencapai kestabilannya. Dari gambar 1 menunjukkan bahwa pH optimum untuk kerja enzim papain imobilisasi adalah pada pH 7. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian terdahulu (Imala, Yulira, dan Hamid Abdillah, 2015).

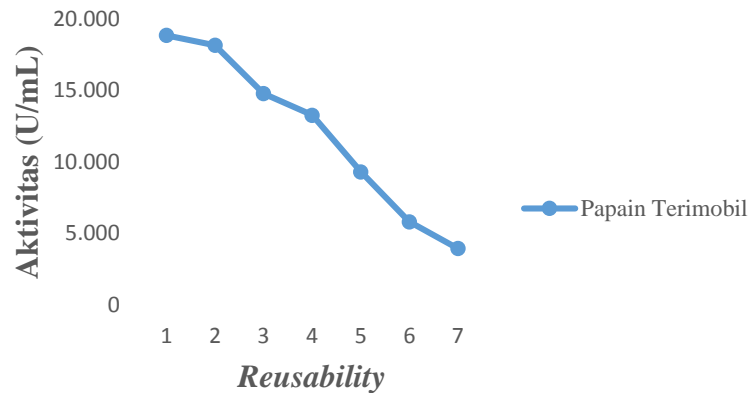
Berikut ini adalah data dari pengaruh suhu pada aktivitas enzim papain.



Gambar 2. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim papain

Pada gambar 2 terlihat bahwa aktivitas papain murni mengalami penurunan, dan berada pada suhu optimum 60°C. Ini menunjukkan bahwa suhu papain murni yang lebih tinggi akan mengalami denaturasi, sehingga aktivitas papain akan murni akan menurun. Suhu naik sampai suhu maksimum akan meningkatkan reaksi enzimatik, namun terjadi kenaikan pada suhu pada papain murni akan mengakibatkan penurunan laju reaksi enzimatik. Sedangkan pada gambar 2 menunjukkan bahwa aktivitas uji pada papain imobil mengalami kenaikan suhu yg sangat tinggi yaitu pada suhu optimum 70°C, sedangkan papain murni memiliki suhu optimum 60°C. Ini menunjukkan bahwa matriks kitosan Mg melindungi papain imobil dari panas, sehingga proses denaturasi akan semakin lambat dan menghasilkan papain imobil mampu bertahan di suhu yang tinggi. Dengan demikian enzim papain imobil memiliki banyak jangkauan kerja, sehingga bisa bermanfaat dalam proses industri. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian terdahulu (Imala, Yulira, dan Hamid Abdillah, 2015).

Berikut ini adalah data *reusability* pada aktivitas enzim papain terimobil.



Gambar 3. *Reusability* pada enzim papain terimobil

Reusability menunjukkan bahwa penggunaan papain imobil berulang akan menurunkan aktivitas enzim. Pada gambar 2 menunjukkan bahwa enzim papain imobil dapat digunakan 5 kali. Dimana pada kali ke lima pemakaian, aktivitas enzim menurun hingga setengah dari pemakaian enzim kali ke dua. Aktivitas papain imobil dapat meningkat dengan penambahan papain imobil dalam maksimum penggunaan terakhir. Penggunaan papain imobil memiliki keuntungan antara lain seperti bisa digunakan secara kontinyu, mempercepat reaksi, mengontrol formasi produk, memudahkan enzim untuk lepas dari produk, memiliki stabilitas termal yang baik. Sedangkan penggunaan papain murni kurang menguntungkan karena harga yang mahal hanya digunakan satu kali saja. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian terdahulu (Pamungkas, 2011).

4. PENUTUP

4.1 Aktivitas enzim papain dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu pH dan suhu.

4.2 Aktivitas enzim papain dengan matriks-Mg didapatkan kondisi optimum pada pH 7 untuk enzim papain imobil, pada pH 4 untuk enzim papain murni, dan pada suhu 70°C untuk enzim papain imobil, pada suhu 60°C untuk enzim papain murni.

4.3 *Reusability* pada imobilisasi papain dapat digunakan sebanyak 5 kali.

DAFTAR PUSTAKA

Bradford, M. 1976. *Analitical Biochem.* 72. 248-254.

Cahyani, S, I., Rendra, K, Yulira., dan Abdillah. H. 2015. Imobilisasi dan Aktivitas Enzim Papain pada Matriks-Ca. Teknik Kimia. UMS.

Chibata, I. 1978. *Immobilixe Enzymes Research and Development.* Jhon and Wiley and Sons. New York.

Kumaunang, Mauren dan Kamu, Vanda. 2011. Aktivitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Kulit Nenas (Anenas Comosus). *Jurnal Ilmiah Sains Vol. 11 No. 2, Oktober 2011.* Progam Studi Kimia FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Manado.

Pamungkas.K. 2011. Kitosan Sebagai Matriks Pendukung Ammobilisasi Papain. Prosiding Tugas Akhir.

Richana, Nur. 2002. Produksi dan Prospek Enzim Xilanase dalam Pengembangan Bioindustri di Indonesia. *Buletin AgroBio 5(1):29-36.* Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor.

Yagar, Y. 2002. *Process Biochem.* (311) 287-289.